Aus der Universitäts-Kinderklinik Hamburg
Direktor: Prof. Dr. R. Degkwitz

Die Bildung von Myelinfiguren

1. **bei Einwirkung höherer Temperatur;**
2. **von Lezithinen, die zu $33^1/_3\,\%$, $66^2/_3\,\%$ und ganz mit Brom gesättigt sind, in Substanz und als $4\,\%$iges Oleosol, gegen Wasser;**
3. **von Cholesterinderivaten in Mischung mit höheren Alkoholen gegen Wasser.**

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Hansischen Universität

vorgelegt von

ERNST SCHÄFFER
aus Hage (Ostfriesland)

1938

Berichterstatter: Prof. Dr. D e g k w i t z

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Hansischen Universität

Druck: Hansischer Gilden-Verlag, Hamburg 11, Admiralitätstraße 33/36

Nach den Untersuchungen von Müller, Jaeckle und Rappoport über das Myelinbildungsvermögen des Cholesterins und des Lecithins in wäßrigen und öligen Medien ergaben sich einige Fragestellungen, die mir zur weiteren Untersuchung übergeben wurden.

Es hatte sich gezeigt, daß Cholesterin gegenüber wäßrigen Medien, die keine polar gebauten lipoiden Kolloide enthalten, außerstande ist, Myeline zu bilden. Cholesterin bildet gegenüber wäßrigen Phasen nur dann Myeline, wenn es selbst in einem wasserunlöslichen polar gebauten lipoiden Körper gelöst ist oder wenn die wäßrige Phase ein wasserlösliches polar gebautes lipoides Kolloid enthält.

Andererseits hatte sich aus den erwähnten Arbeiten ergeben, daß Cholesterin, wenn es in ungesättigten, wasserunlöslichen Lipoiden gelöst ist, gegenüber der wäßrigen Phase keine Myeline bildet.

Es war nun möglich, daß bei diesem Verhalten die Konsistenz der Mischung Cholesterin — Lipoid eine Rolle spielen könnte und zwar in dem Sinne, daß die Konsistenz in dem Gemisch Cholesterin — ungesättigtes Lipoid zu gering und in der Mischung Cholesterin — gesättigtes Lipoid zu groß sein könnte, als daß gegenüber einer rein wäßrigen Phase eine Myelinbildung möglich wäre.

Diese Frage wurde jetzt dadurch zu entscheiden versucht, daß untersucht wurde, ob Cholesterin bei Steigerung der Temperatur, wodurch seine Plastizität erhöht wird, gegen kolloidfreie wäßrige Phasen Myeline zu bilden imstande ist.

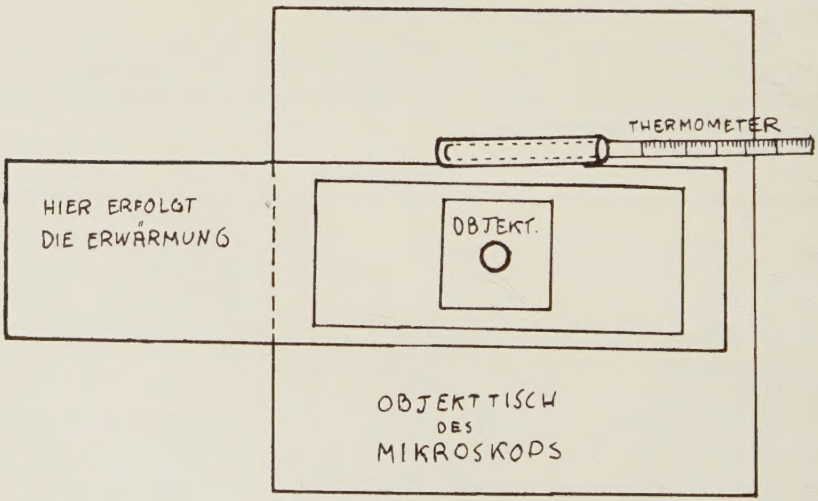
Tabelle I.

Nr.	Substanz	gegen	sofort bei 20°	steigend bis 80° im Verl. v. 10 Minuten	24 Std. bei 37°
1.	Cholesterin	Wasser	—	—	—
2.	Cholesterin	n/10 NaOH	—	—	—
3.	Cholesterin	n/10 HCl	—	—	—
4.	Natriumstearat	Wasser	—	—	—
5.	Stearinsäure	n/10 NaOH	—	—	—
6.	Stearinsäure	1%ig NH_3	—	—	—
7.	Mischungen in äquimolekularen Verhältn. Cholesterin-Stearinsäure	Wasser	—	+ + bei 60°	+

Nr.	Substanz	gegen	sofort bei 20°	steigend bis 80° im Verl. v. 10 Minuten	24 Std. bei 37°
8.	Cholesterin-Ölsäure	Wasser	—	—	—
9.	Cholesterylchlorid-Stearinsäure	Wasser	—	—	—
10.	Cholesterylchlorid-Ölsäure	Wasser	—	—	—
11.	Dihydrocholesterin-Ölsäure	Wasser	—	—	—
12.	Cholesterin-oleinsaures Aethyl	Wasser	—	—	—

Wie aus der Tabelle hervorgeht, war das nicht der Fall. Auch Cholesterinabkömmlinge, von denen in den oben erwähnten Arbeiten berichtet war, daß sie keine Myeline bilden, erwarben diese Eigenschaft bei höheren Temperaturen nicht. Es sei erwähnt, daß Cholesterin, in Stearinsäure gelöst, bei 60° bereits nach 10 Minuten Myelinbildung zeigte, während es dieses bei Zimmer- und Brutschranktemperatur erst nach 24 Stunden vermochte.

Für die Beobachtungen bei höherer Temperatur wurde eine Heizvorrichtung gebaut, wie die folgende Abbildung zeigt:



Die Apparatur besteht aus einer 3×12 cm großen, 4 mm starken Messingplatte, die an der für die Beobachtung des Objekts bestimmten Stelle eine 5 mm weite Bohrung enthält. An der Seite ist ein kleines, unten geschlossenes Stück Kupferrohr angelötet zur Aufnahme eines Thermometers, das zur Erzielung einer möglichst guten Wärmeleitung in Paraffinöl eingebettet ist. An der links bezeichneten Stelle erfolgt von unten die Erwärmung mit der Sparflamme eines Bunsenbrenners. Um zwischen der Temperatur des Objekts und der vom Thermometer angezeigten eine Vergleichsmöglichkeit zu besitzen, wurden verschiedene Substanzen mit bekanntem Schmelzpunkt auf einem Objektträger zum Schmelzen erhitzt und die dabei angezeigte Temperatur abgelesen. Bei den Versuchen wurden die Objekte stets innerhalb 10 Minuten bis auf 80° erhitzt und dabei fortwährend beobachtet.

Die zweite Frage lautete, ob die Doppelbindungen des Lezithins an dem Myelinbildungsvermögen dieses Stoffes beteiligt sind. Die Frage wurde so zu entscheiden versucht, daß Lezithin in steigendem Maße bromiert und daraufhin auf sein Myelinbildungsvermögen untersucht wurde.

Zur Darstellung solcher Bromabkömmlinge des Lezithins war zunächst die Feststellung des gesamten Brombindungsvermögens des verwendeten Präparats (Lezithin ex ovo puriss. Merck) notwendig. Es wurde eine Lösung von 0,778 g Lezithin (Mol.-Gew. 778) auf 10 ccm Chloroform mit einer Lösung von 0,800 g Brom (Mol.-Gew. 160) auf 10 ccm Chloroform bis zur Sättigung titriert. (Indikator Kaliumjodidstärkepapier.) 10 ccm der Lezithinlösung verbrauchten 4,8 ccm der Bromlösung, d. h. auf 1 mg-Mol. Lezithin entfielen 2,4×1 mg-Mol. Brom. Es wurde also das 2,4fache der Menge verbraucht. die zur Sättigung einer Doppelbindung theoretisch erforderlich wäre. Dieses Ergebnis entspricht einem mittleren Gehalt an ungesättigten Fettsäureresten (Thierfelder-Klenk: Chemie der Cerebroside und Phosphatide). Die gesättigte Lösung wurde im Vacuum der Wasserstrahlluftpumpe unter leichtem Erwärmen im Wasserbade vom Chloroform befreit und der Rückstand als gesättigtes Bromlezithin später verwendet. Nach dieser Methode wurden außerdem 33⅓% gesättigtes und 66⅔% gesättigtes Bromlezithin dargestellt. In den folgenden Versuchen wurde das Verhalten der drei Präparate gegen Wasser beobachtet und im Bilde festgehalten, zum Vergleich wurden dazu noch Aufnahmen von Myelinfiguren des reinen Lezithins angefertigt. Aus den Abbildungen 1—7 geht hervor, daß sich die Art der Myelinbildung mit steigendem Bromgehalt ändert und vollständig bromiertes Lezithin keine Myeline bildet. Sind die Bromlezithine in einem öligen Medium kolloidal gelöst, so nimmt die Myelinbildung gegenüber einer wäßrigen Phase nach der vollständigen Bromierung nicht in dem gleichen Maße ab wie bei der Substanz gegen Wasser (Abbildungen 8—11).

Als dritte Frage war bei den Rappoportschen Untersuchungen offen geblieben, ob Cholesterinabkömmlinge, die gegenüber einer wäßrigen, Natriumoleat enthaltenden Phase keine Myeline bilden, dieses

tun, wenn sie selbst in einem wasserunlöslichen, polar gebauten Lipoid gelöst sind.

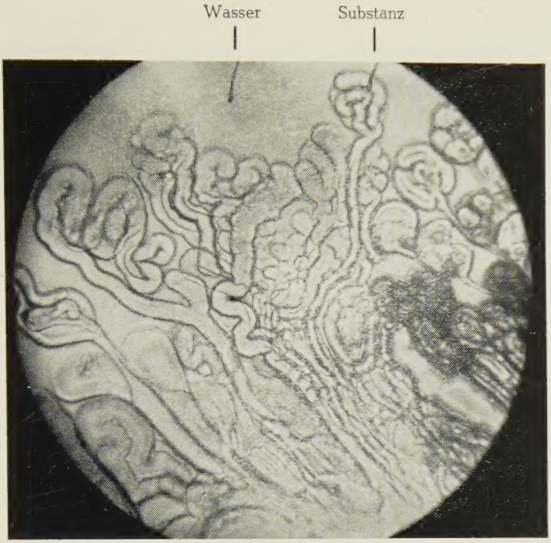
Dabei zeigte sich, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht, daß Cholesterylchlorid, in Duodecylalkohol oder Oleinalkohol gelöst, gegenüber Wasser keine Myeline zu bilden vermag, während das Myelinbildungsvermögen des Dihydrocholesterins durch Lösung in Duodecylalkohol deutlich ansteigt, in Oleinalkohol jedoch ebenfalls fehlt (Abbildung 12).

Tabelle II.

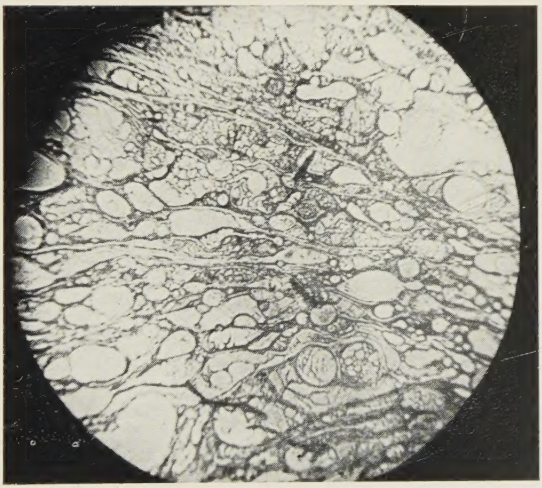
Nr.	Mischungen in aequimolek. Verhältnissen	gegen	sofort bei 20°	nach 6 und 24 Std. bei 37°
1.	Cholesterylchlorid-Duodecylalkohol	Wasser	—	—
2.	Cholesterylchlorid-Oleinalkohol	Wasser	—	—
3.	Dihydrocholesterin-Duodecylalkohol	Wasser	+	+
4.	Dihydrocholesterin-Oleinalkohol	Wasser	(+) zweifelhaft	—

Zusammenfassung.

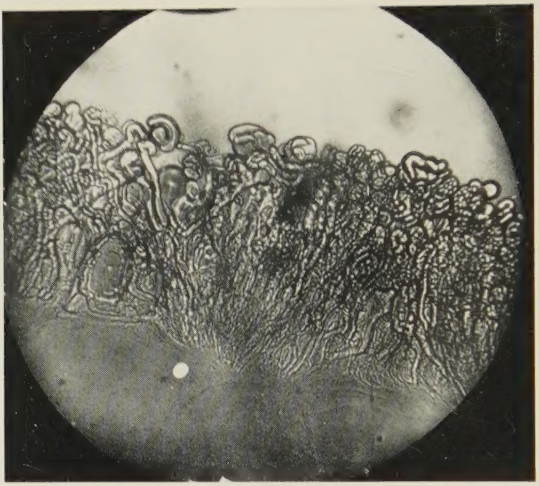
1. Ein Einfluß der Temperatur und damit der veränderten Plastizität auf das Myelinbildungsvermögen konnte nicht festgestellt werden.
   Das Unvermögen des in ungesättigten polar gebauten Lipoiden enthaltenen Cholesterins, Myelinfiguren zu bilden, muß also auf andere Gründe zurückgeführt werden.
2. Die Doppelbindungen des Lezithins sind an der Myelinbildung beteiligt, da nach ihrer Sättigung mit Brom Myelinfiguren nicht mehr bzw. nur noch in ganz geringem Maße gebildet werden.
3. Bei den untersuchten Cholesterinabkömmlingen in Verbindung mit polar gebauten Lipoiden konnte nur beim Dihydrocholesterin, gelöst in Duodecylalkohol, Myelinbildung beobachtet werden.



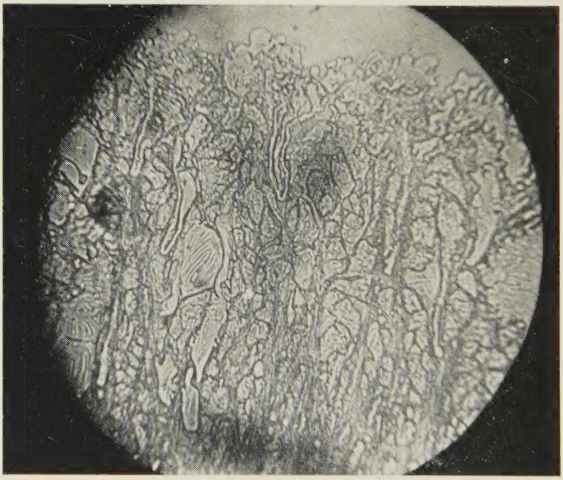
1. Lezithin — Wasser nach 3 Std.
bei 37°
Vergr. 84mal



2. Lezithin — Wasser nach 24 Std.
bei 37°
Vergr. 84mal

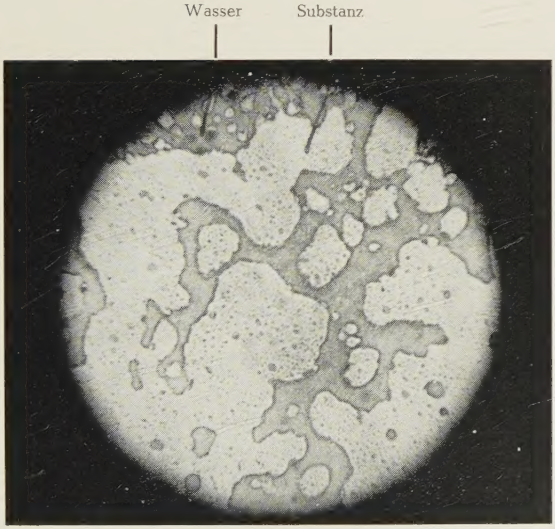


3. $33^1/_3$% gesättigtes Brom-Lezithin — Wasser nach 3 Std. bei 37°
Vergr. 84mal

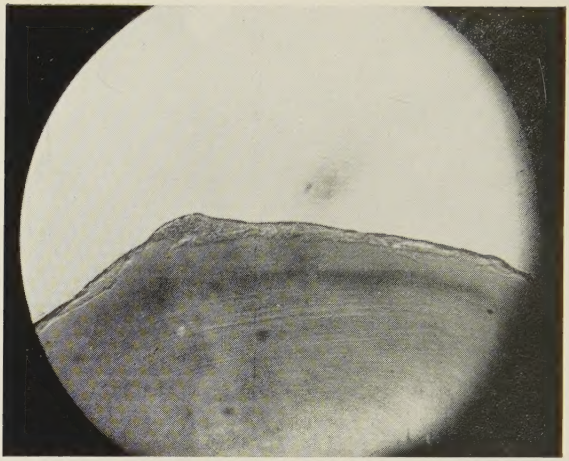


4. Dasselbe nach 24 Std. bei 37°
Vergr. 84mal

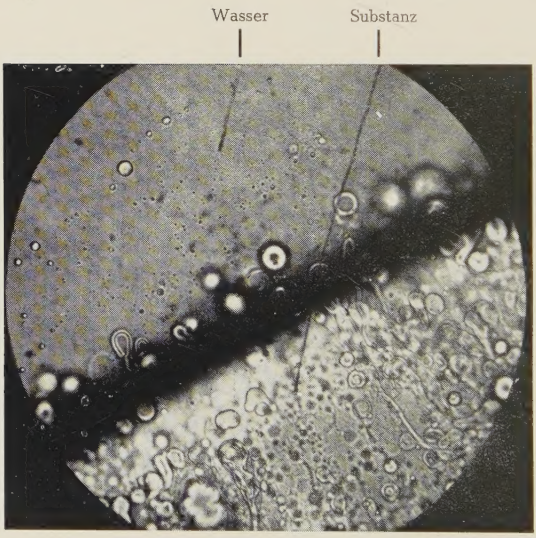
5. $66\frac{2}{3}\%$ gesättigtes Brom-Lezithin
nach 3 Std. bei 37°
Vergr. 84mal



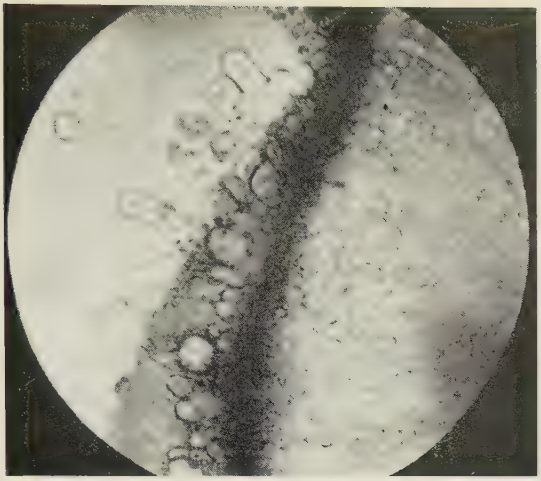
6. Dasselbe nach 24 Std.
bei 37°
Vergr. 84mal



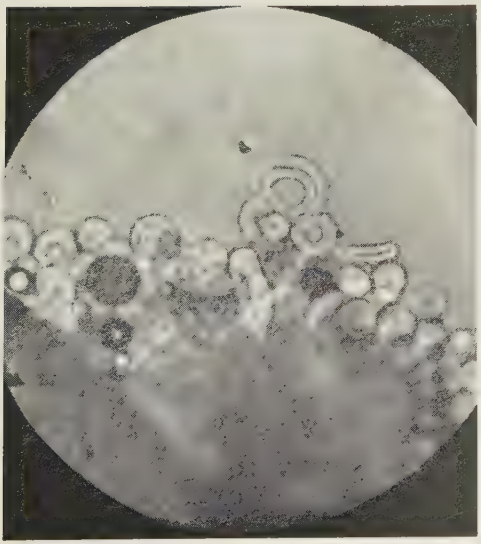
7. 100% gesättigtes Brom-Lezithin
nach 3 Std. bei 37°
Nach 24 Std. unverändert
Vergr. 84mal



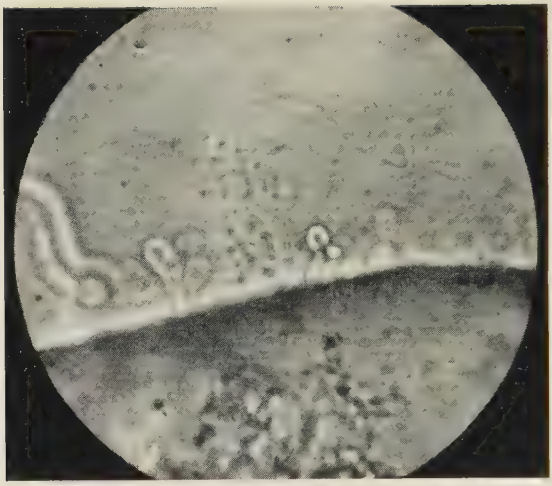
8. Lezithin als 4%iges Oleosol —
Wasser, sofort
Vergr. 350mal



9. $33^1/_3{}^0/_0$ gesättigtes Brom-Lezithin
als $4^0/_0$iges Oleosol — Wasser, sofort
Vergr. 350mal

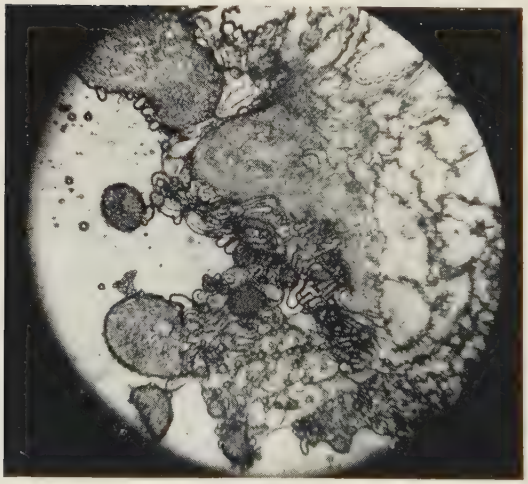


10. $66^2/_3{}^0/_0$ gesättigtes Brom-Lezithin
als $4^0/_0$iges Oleosol — Wasser, sofort
Vergr. 350mal



11. 100% gesättigtes Brom-Lezithin als 4%iges Oleosol — Wasser nach 6 Std. bei 37°. Bei sofortiger Beobachtung waren die Myelinfiguren nur sehr vereinzelt vorhanden

Vergr. 350mal



12. Dihydrocholesterin + Duodecylalkohol — Wasser, sofort

Vergr. 350mal

LITERATUR.

Müller: „Über Myelinfiguren und myelogene Substanzen". (Hamburg Diss. 1937.)

Jaeckle: „Myelinbildung in Oleosolen". (Hamburg Diss. 1936.)

Rappoport: „Myelinbildungsvermögen von Cholesterinderivaten und Mischungen von Cholesterin mit höheren Fettalkoholen". (Hamburg Diss. 1936.)

Thierfelder und Klenk: „Die Chemie der Cerebroside und Phosphatide. (Springer, 1930.)

Herrn Professor Degkwitz sage ich für die Überlassung und Anleitung zu dieser Arbeit meinen herzlichen Dank.

LEBENSLAUF.

Ich, Ernst Schäffer, bin geboren am 31. März 1912 zu Hage (Ostfriesland) als Sohn des dortigen Apothekenbesitzers Georg Schäffer. Nach Besuch der Volksschule in Hage und des Ulrichs-Gymnasiums in Norden legte ich Ostern 1930 die Reifeprüfung ab. Die ersten zwei Semester meines medizinischen Studiums verbrachte ich in Tübingen, die nächsten drei in Kiel, wo ich im Sommer 1932 die Vorprüfung bestand. Ich brach darauf vorläufig das medizinische Studium ab und wendete mich dem Apothekerberuf zu. Die zweijährige Praktikantenausbildung erhielt ich bei Herrn Dr. Carstens in Westerstede (Oldenburg). Nach der pharmazeutischen Vorprüfung verbrachte ich eine dreisemestrige pharmazeutische Studienzeit in Marburg, die ich dort Ostern 1936 mit der pharm. Prüfung abschloß. Die letzten zwei Marburger Semester waren auch dem klinischen Studium gewidmet, das ich im Sommersemester 1936 in Königsberg, darauf in Hamburg fortgesetzt habe. Im Juli 1938 habe ich in Hamburg die ärztliche Prüfung bestanden.